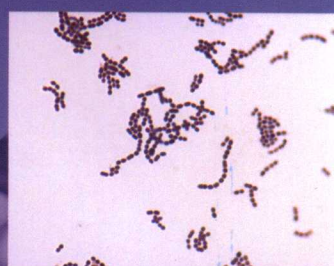
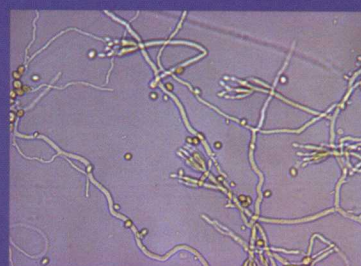
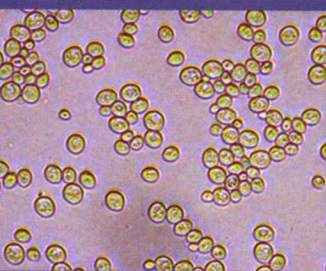




普通高等教育“十一五”国家级规划教材

微生物学 实验教程

第 4 版



主编 徐德强 王英明 周德庆

非外借

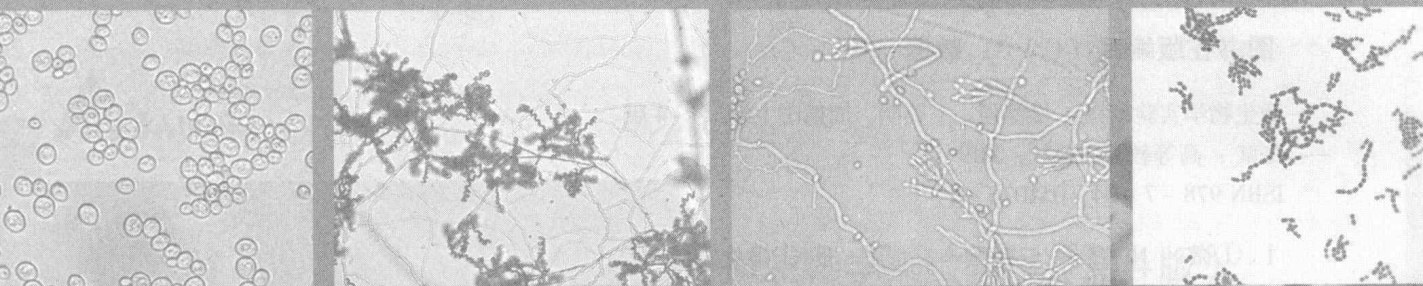
高等教育出版社



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

微生物学 实验教程

第 4 版



主 编 徐德强 王英明 周德庆

编著者 (以写作量为序)

胡宝龙 周德庆 祖若夫 徐德强

王英明 宋大新 丁晓明 肖义平

全哲学 郭惠民 范长胜

高等教育出版社·北京

内容简介

本书是复旦大学微生物学实验课程建立至今 70 年来数代教师教学经验的总汇。本次修订根据当前的教学要求,在保持前三版优点的基础上,通过新增、修订和删减,更新了内容,提升了质量。具体安排了 98 个实验,包括基础实验 66 个,任选实验 32 个。全书内容的选编既重视基本操作的全面训练,又突出了新进展、新重点,还注意对学生学习兴趣、综合能力、研究能力和创新能力的培养。内容涵盖显微镜技术,微生物形态观察,培养基配制,消毒与灭菌、生长繁殖的测定,菌种的分离、纯化、鉴定、保藏,遗传变异与育种,分子微生物学,病毒学与免疫学基本技术、以及与食品、发酵、环境、土壤和生物防治等有关的一些应用微生物学实验。书中有不少内容为作者独创;突出分子微生物学、微生物遗传学和厌氧菌实验技术。书后附有微生物学名发音等附录 16 个。配套的数字课程提供部分实验的讲授及操作视频。

本书具有内容丰富、取材新颖、体系科学、图例简明、易教易学和特色明显等优点。可用作综合性大学、师范院校和其他高校的生物科学、生物技术、生物工程、环境科学以及食品、化工、医药类和农林类等本科专业和研究生的微生物学实验教材,也可供从事生命科学有关研究、管理和生产等科技人员参考。

图书在版编目 (C I P) 数据

微生物学实验教程 / 徐德强, 王英明, 周德庆主编. --4 版.

-- 北京: 高等教育出版社, 2019.4

ISBN 978 - 7 - 04 - 051076 - 8

I. ①微… II. ①徐… ②王… ③周… III. ①微生物学 - 实验 - 高等学校 - 教材 IV. ①Q93 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2019) 第 017158 号

Weishengwuxue Shiyān Jiāochéng

策划编辑 王 莉 责任编辑 赵晓玉 特约编辑 赵君怡 封面设计 于文燕
责任印制 刘思涵

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100120
印 刷 肥城新华印刷有限公司
开 本 850mm × 1168mm 1/16
印 张 20
字 数 520 千字
购书热线 010 - 58581118
咨询电话 400 - 810 - 0598

网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.hepmall.com.cn>
<http://www.hepmall.com>
<http://www.hepmall.cn>
版 次 1993 年 1 月第 1 版
2019 年 4 月第 4 版
印 次 2019 年 4 月第 1 次印刷
定 价 42.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物 料 号 51076 - 00

数字课程 (基础版)

微生物学 实验教程

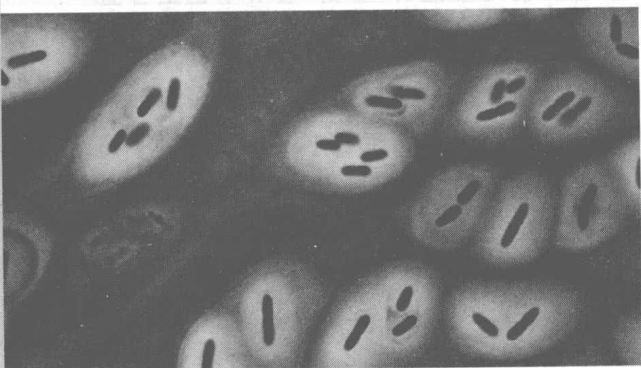
(第4版)

主编 徐德强 王英明 周德庆

登录方法:

1. 电脑访问 <http://abook.hep.com.cn/>, 51076 或手机扫描下方二维码、下载并安装 Abook 应用。
2. 注册并登录, 进入“我的课程”。
3. 输入封底数字课程账号 (20 位密码, 刮开涂层可见), 或通过 Abook 应用扫描封底数字课程账号二维码, 完成课程绑定。
4. 点击“进入学习”, 开始本数字课程的学习。

课程绑定后一年为数字课程使用有效期。如有使用问题, 请点击页面右下角的“自动答疑”按钮。



微生物学实验教程 (第4版)

《微生物学实验教程》数字课程, 是与教材一体化设计的配套数字资源, 是教材的有力补充。本数字课程包括教材第三部分“任选实验(二)”, 视频资源和参考文献等丰富的内容, 建议教师根据教学目标引导学生充分利用这些资源, 进行拓展学习。

用户名: 密码: 验证码: 5360 忘记密码?

<http://abook.hep.com.cn/51076>

扫描二维码, 下载 Abook 应用



第4版前言

本书第3版被评为“普通高等教育‘十一五’国家级规划教材”，自2013年问世至今已逾5年，此前曾印刷7次，发行总数近70 000册。为跟上时代前进的步伐和学科的发展，在高等教育出版社领导和编辑的关心和鼓励下，编写组的老师们再次做了修订，经大家认真工作和相互配合，第4版终于成稿。

微生物学是生命科学中一门极其典型的实验性学科，这是由其研究对象的微观、超微观性决定的。在学科的建立和发展的关键时刻，都是因为独创的实验仪器、装备或方法的引领而实现的。经典的实例比比皆是，例如，17世纪后半叶，荷兰的列文虎克用其自制的单式显微镜首次发现了肉眼无法见到的微观世界，从而带动了一批兴趣爱好者开始对一些微生物的观察和记载；19世纪中叶，当社会上错误的“生物自然发生论”甚嚣尘上之时，法国学者巴斯德设计了著名的曲颈瓶实验，一举证实了生命必须来自生命，提出了胚种学说，并开创了一门崭新的微生物学学科；此后，德国医生科赫及其团队创立了细菌的纯种分离、培养和鉴别的方法，开创了医学微生物学的黄金时代。今天，前辈们的一些重要经典实验方法，都被凝固在微生物学实验教材的基础实验部分中，它们在今后的学术长河中将永远熠熠生辉！进入近现代阶段后，随着微生物学与宏观生物学、化学、物理学和技术科学间的交叉、渗透和融合，在微生物学实验中，又出现了大量的新仪器、新装备、新方法和新技术，它们不但极大地推动了现代微生物学特别是分子微生物学的飞速发展，也为微生物学反馈其他学科和研究领域提供了有利的武器和良好的机会。

因此，在任何生命科学领域学习的学生，在大学时代，必须打好坚实的微生物学实验基础，以便让自己迅速站到“巨人的肩膀上”，借以更好地施展每个人的聪明才智。具体地讲，通过本课程的训练，学生们都应力求自己达到：无菌观念强、基本操作精、独立实验好、综合运用行。

本书力求达到质量为重、学界认可、学生爱用、历久弥新。本版在保持前三版优点的基础上，通过新增(3个)、修订(10余个)和删减(3个)等措施，更新了内容，提升了质量。具体安排了98个实验，包括基础实验66个，任选实验(一)15个，任选实验(二)17个(这部分实验内容为电子版)。通过上述措施，使本版达到篇幅适中，题材丰富，内容精炼和易教又易学等特色。此外，在与本书配套的数字课程中，还载有王英明等老师制作和整理的教学资料，可供学习和参考。

本教材能走到今天，首先应感谢我院几代先辈老师为我们打下的好学风和好基础，还要感谢高等教育出版社的领导和王莉等编辑的长期支持和具体帮助，以及本组各位老师的尽职和合作，此外，广大同行和读者的选用和肯定也是对我们最大的支持和鼓励。

在未来的岁月中，若能得到多方的批评、建议和帮助，将是我们不断进步的动力，谢谢大家！

周德庆

于复旦大学生命科学学院

2018.8.18

第3版前言

微生物学是生命科学中的一门最有自己独特实验方法的学科。一个多世纪以来,它的迅猛发展是紧紧依靠研究方法的不断创新和生产技术持续革新而取得的。如果说现代微生物学的进步是因为学者们不断地“站在巨人肩膀上”的结果,那么,现代微生物学实验方法的进步就需要学者们不断自觉地“站在巨人手掌上”才能达到。

本书第2版列入教育部的“普通高等教育‘十一五’国家级规划教材”。自2006年至今,已连续印刷了10次,累计印数达数万册,在同行中有较大影响。为迅速跟上学科发展的步伐,为更好地服务于广大同行和读者,我们深感有责任及时对第2版作进一步的修订,主要通过删繁就简、削枝强干和去陈推新,以达到紧跟前沿、提高质量和更好地“站在巨人手掌上”的目标。

本版力图在保留前版主要内容和优点的基础上,删去一些选用频率较低、相对次要的实验(20个);重点增强了现代分子微生物学(7个)和微生物遗传学实验(3个),适量增加几个环境微生物学、微生物生理学和免疫学实验;此外,还对原有7个实验的内容作了更新和提高,从而使本版在不增加篇幅的前提下,做到数量适中(共有实验98个,包括基础实验65个和任选实验33个),重点更加突出,内容更加全面,质量更为提高。

本书是复旦大学数代教师在微生物学实验教学中长期实践经验的总汇。在本版的编写过程中,除继续发挥老、中、青教师的各自专长外,还特别注意发掘一些青年教师在现代分子微生物学实验领域的特长,由此也使本书更显特色。在与本书配套的数字课程网站中,还载有一套肖义平等老师制作和整理的相关图像资料,可供学习参考。

本书的出版,得到了高等教育出版社生命科学与医学出版事业部领导的大力支持和王莉等编辑的具体指导和精心加工;此外,我院乔守怡教授也长期关心和支持本教材的建设。在此,我们代表全体编著者向他们表示诚挚的谢意!

周德庆 徐德强
于复旦大学生命科学学院

2012.9.1

第2版前言

本书首版自复旦大学出版社于1993年正式出版至今,已有十余年。这是一本凝聚我专业数代教师四十余年来教学经验的总结,具有历史悠久、内容丰富、特色鲜明、定位明确和易教易学等优点。该书出版后,受到全国同行的欢迎和广泛选用,至今还经常收到求购和要求再版的信件。

由于学科的发展及我校新一代教师的成长,十余年来,我们在教学和科学研究中又累积了不少新内容和新经验,从而为本书第2版的出版提供了良好的物质基础和精神准备;同时,由于理论课教材《微生物学教程(第2版)》在全国同行中被广泛选用和获得较好反响,也为这本配套实验教材的出版提出了要求和创造了有利条件。

本教材共安排了104个实验,包括76个基础实验和28个任选实验,内容比第1版丰富得多。其中有不少实验是我们通过原创或革新等措施而成,形成了一批设计巧妙、条件简单、易于掌握和便于推广的特色实验,如四大类微生物菌落的识别、真菌单孢子分离、乳酸菌和双歧杆菌的简便快速计数法、厌氧菌的针筒培养法、根霉的假根观察、用侧臂试管测定细菌的生长曲线,以及改良的霉菌载片培养、划线分离技术和芽孢染色法等。通过讲解和学习这类自创实验,不仅可活跃教学气氛和提高学习效果,还可激发同学创新欲望和培养他们的创新能力。

本书是一份集体创作。编写过程中,得到我院副院长乔守怡教授的关心和支持,并受到高等教育出版社领导的大力支持和吴雪梅副编审的具体指导。在此,谨对他们表示由衷的感谢。

最后,欢迎全国同行和新老读者随时对本书提出宝贵的意见和建议,以臻逐步完善和提高。

周德庆

于复旦大学生命科学学院
微生物学和微生物工程系

2005.4.15

第1版前言

微生物学是生物学中第一个建立起一套自己特有实验技术的学科。随着时代的进步和科技的发展,微生物学在其原有的一些经典实验技术的基础上,又获得了极大地丰富和飞速的发展。今天,微生物学实验技术已渗透到现代生命科学的各分支领域,在推动有关研究和应用中正发挥着越来越重要的作用。

微生物学实验课是培养未来生命科学工作者掌握有关基本实验方法和技术的一门必修课。良好的教材是提高实验课质量的先决条件之一。在长期的教学实践中,我们认为在微生物学实验教学和教材编写中均应努力贯彻“培养兴趣,严格要求;操作为主,验证为辅;重点技术,反复实践;善于活用,巧于动手”等原则。

本书是在我们长期使用的讲义的基础上加以适当修改和充实而成的。在编写过程中,我们力求使它成为一本内容较全面、技术较完整、体系较新颖、编写有特色的基础微生物学实验教程。在“教程”这一总目标下,我们按一学期一般有20个教学周的常规,把第一部分的59个“基本实验”按周编排成19套(另一周留作考试用),每套都有一个主题,围绕主题按主次开设几个可供选择的实验。这不但有利于全学期教学内容和基本技术的均衡安排,而且还为周学时差别较大的不同学校提供了一个选择的参考。其次,为了让有余力的学生或有条件的学校开展兴趣小组活动,我们还特意安排了一组“任选实验”作为教程的第二部分,其内容都是一些条件简便、联系实际、有利于培养兴趣和训练综合动手能力的实验。

本书的出版为我们创造了一个与国内同行进行实验教材交流的良好机会。我们热切地期待广大青年学生和同行专家们对本书提出各种批评和建议。

周德庆

1992.3.8

实验须知

微生物学实验课是一门操作技能较强的课程。通过本课程学习,要求学生牢固建立无菌概念,掌握微生物学实验的一套基本操作技术;树立严谨、求实的科学态度,提高观察、分析问题和解决问题的能力;培养创新意识;树立勤俭节约、爱护公物、相互协作的优良作风。

为了提高教学效果,保证实验的质量和实验室的安全,我们根据微生物实验工作的特点提出如下几点注意事项:

1. 每次实验前必须充分预习实验教材,以了解实验的目的、原理和方法。初步熟悉实验操作中的主要步骤和环节,对整个实验的安排做到先后有序、有条不紊和避免差错。

2. 非必要的物品不要带进实验室,必须带进的物品(包括帽子、围巾等)应放在不影响实验操作的地方。

3. 每次实验前须用湿布擦净台面,必要时可用0.1%新洁尔灭溶液擦。实验前要洗手,以减少染菌的概率。

4. 微生物实验中最重要的一环,就是要严格地进行无菌操作,防止杂菌污染。为此,在实验过程中,每个人要严格做到以下5点:

(1) **操作时要预防空气对流:**在进行微生物实验操作时,要关闭门窗,以防止空气对流。

(2) **接种时不要走动和讲话:**接种时尽量不要走动和讲话,以免因尘埃飞扬和唾沫四溅而导致杂菌污染。

(3) **含菌器具要消毒后清洗:**凡用过的带菌移液管、滴管或涂布棒等,在实验后应立即投入5%石炭酸(又称苯酚)或其他消毒液中浸泡20 min,然后再取出清洗,以免污染环境。

(4) **含培养物的器皿要杀菌后清洗:**在清洗带菌的培养皿、三角烧瓶或试管等之前,应先煮沸10 min或进行加压蒸汽灭菌。

(5) **要穿干净的白色工作服:**微生物学工作者在进行实验操作时应穿上白色工作服,离开时脱去,并经常洗涤以保持清洁。

5. 凡须进行培养的材料,都应注明菌名、接种日期及操作者姓名(或组别),放在指定的温箱中进行培养,按时观察并如实地记录实验结果,按时交实验报告。

6. 实验室内严禁吸烟,不准吃东西,切忌用舌舐标签、笔尖或手指等物,以免感染。

7. 节约药品、器材和水、电、煤气。

8. 各种仪器应按要求操作,用毕按原样放置妥当。高压钢瓶和灭菌锅等特种设备需要专人负责管理。

9. 实验完毕,立即关闭煤气,整理和擦净台面,离开实验室之前要用肥皂洗手。值日生负责打扫实验室及进行安全检查(门窗、水、电及煤气等)。

10. 冷静处理意外事故:

(1) **打碎玻璃器皿:**如遇因打碎玻璃器皿而把菌液洒到桌面或地上时,应立即以5%石炭酸液或0.1%新洁尔灭溶液覆盖,30 min后擦净。若遇皮肤破伤,可先去除玻璃碎片,

■ 实验须知

再用蒸馏水洗净后,涂上碘酒或红汞。碎玻璃消毒后,应放入锐器盒中。

(2) **菌液污染手部皮肤:**先用70%乙醇棉球拭净,再用肥皂水洗净。如污染了致病菌,应将手浸于2%~3%来苏尔或0.1%新洁尔灭溶液中,经10~20 min后洗净。

(3) **菌液吸入口中:**在普通微生物学实验中,不可用病原菌作材料,但即使用普通菌种,在作逐级稀释时,也要使用助吸器进行操作。万一遇菌液入口,应立即吐出,并用大量自来水漱口多次,再根据该菌的致病程度做进一步处理:

① 非致病菌:用0.1%高锰酸钾溶液漱口。

② 一般致病菌(葡萄球菌、酿脓链球菌、肺炎链球菌等):用3% H_2O_2 、0.1%高锰酸钾溶液或0.02%硝甲酚汞液漱口。

③ 致病菌:如吸入白喉棒杆菌,在用②法处理后,再注射1 000 U白喉抗毒素作紧急预防;若吸入伤寒沙门氏菌、痢疾志贺氏菌或霍乱弧菌等肠道致病菌,在经②法处理后,可注射抗生素和相应抗血清以预防发病。

(4) **衣服或易燃品着火:**应先断绝火源或电源,搬走易燃物品(乙醚、汽油等),再用湿布掩盖灭火,或将身体靠墙或着地滚动灭火,必要时可用灭火器。

(5) **皮肤烫伤:**可用5%鞣酸、2%苦味酸(苦味酸氨苯甲酸丁酯油膏)或2%甲基紫溶液涂抹伤口。

(6) 化学药品灼伤:

① 强酸、溴、氯、磷等酸性药剂:先用大量清水洗涤,再用5% NaHCO_3 或5% NaOH 中和。

② NaOH 、金属钠(钾)、强碱性药剂:先用大量清水洗涤,再用5%硼酸或5%乙酸中和。

③ 石炭酸:用95%乙醇洗涤。

④ 如遇眼睛灼伤:则应先用大量清水冲洗,再根据化学品的性质作分别处理,例如,遇碱灼伤可用5%硼酸洗涤,遇酸灼伤可用5% NaHCO_3 洗涤,在此基础上再滴入1~2滴橄榄油或液体石蜡加以润湿即可。

(周德庆)

实验常用器皿一览表

| 器皿名称 | 规格 | 数量 / 组 |
|---------------------|--------------------------------|----------------|
| 接种环 | 柄金属杆 (长 22 cm) + 环丝 (长 8~9 cm) | 1 根 |
| 接种针 | 柄金属杆 (长 22 cm) + 针丝 (长 8~9 cm) | 1 根 |
| 移液管 | 10 mL, 5 mL, 1 mL | 2 支, 4 支, 20 支 |
| 移液管筒 | ϕ 6 cm \times 36~38 cm | 1 支 |
| 培养皿 | 9 cm | 20 套 |
| 培养皿筒 (盒) | ϕ 10.5 cm \times 21 cm | 2 个 |
| 三角烧瓶 | 250 mL | 5~6 个 |
| 三角烧瓶塞 (套) | 符合口径 | 5~6 个 |
| 试管 | ϕ 15 mm \times 150 mm | 40 支 |
| 试管帽 (塞) | 符合口径 | 40 个 |
| 铝制试管架 | ϕ 17.5 mm \times 40 孔 | 1 个 |
| 载玻片 | 25 mm \times 75 mm | 15~20 片 |
| 载片培养“ \cap ”形玻璃搁棒 | 置直径 9 cm 培养皿内适宜 | 3~5 个 |
| 细菌染色载片搁架 | 置染色废液缸上适宜 | 1 个 |
| 玻璃烧杯 | 250 mL | 1 个 |
| 石棉网 | 14 cm \times 14 cm | 1 块 |
| 量筒 | 100 mL | 1 支 |
| 玻璃漏斗 | 9 cm | 1 个 |
| 乳胶管 | | 1 根 |
| 橡胶管夹 | | 1 个 |
| 滴管 | | 5 支 |
| 橡皮滴管头 | | 5 个 |
| 洗耳球 | | 1 个 |
| 玻璃搅拌棒 | | 1 根 |
| 菌液涂布棒 | | 3~5 根 |
| 微量可调移液器 | | 各种规格 (公用) |
| 杜氏发酵集气小管 | | 10 支 |
| 刻度试管 | 10 mL | 5 支 |
| 离心管 (各种规格) | 50 mL, 10 mL, 5 mL, 1.5 mL | 各 2 支 |
| 目镜测微尺 | | 1 块 (公用) |
| 镜台测微尺 | | 1 块 (公用) |
| 镊子 | 12.5 cm | 1 把 |
| 微量进样器 | 25 μ L | 2 支 (公用) |
| 层析缸 | | 公用 |
| 染色废液缸 | | 1 个 (公用) |
| 显微镜 | 100 \times 油浸物镜 | 1 台 (公用) |
| 助吸器 | | 1 支 |

目 录

实验须知..... v

实验常用器皿一览表..... vii

第一部分 基础实验

第一周 环境微生物的检测和菌落识别..... 3

实验 I-1-1 环境中微生物的检测..... 3

实验 I-1-2 斜面接种与培养..... 8

实验 I-1-3 三点接种与培养..... 13

实验 I-1-4 穿刺接种法和细菌运动力的
观察..... 16

实验 I-1-5 四大类微生物菌落形态的
识别..... 18

第二周 细菌染色法和光学显微镜的 使用..... 23

实验 I-2-1 普通光学显微镜的使用..... 23

实验 I-2-2 细菌的涂片及简单染色法..... 28

实验 I-2-3 革兰染色法(经典法)..... 30

实验 I-2-4 革兰染色法(三步法)..... 33

实验 I-2-5 显微测微尺的使用..... 34

第三周 细菌的芽孢、荚膜和鞭毛染 色法..... 38

实验 I-3-1 芽孢染色法..... 38

实验 I-3-2 荚膜染色法..... 40

实验 I-3-3 鞭毛染色法..... 43

实验 I-3-4 相差显微镜的使用..... 46

实验 I-3-5 暗视野显微镜的使用..... 49

第四周 放线菌和真菌的培养与形态 观察..... 51

实验 I-4-1 放线菌的插片、搭片培养
和形态观察..... 51

实验 I-4-2 真菌的载片培养和形态
观察..... 54

实验 I-4-3 根霉孢子囊和假根的观察..... 57

实验 I-4-4 蓝色犁头霉接合孢子囊的
形成和观察..... 60

实验 I-4-5 霉菌子囊壳、子囊和子囊孢子
的观察..... 62

第五周 培养基的配制、分装和灭菌..... 65

实验 I-5-1 通用培养基的配制..... 65

实验 I-5-2 鉴别性培养基的配制..... 73

实验 I-5-3 选择性培养基的配制..... 75

实验 I-5-4 加压蒸汽灭菌法..... 78

实验 I-5-5 培养皿的干热灭菌法..... 81

实验 I-5-6 过滤除菌技术..... 83

第六周 微生物生长量的测定和生长曲 线的绘制..... 87

实验 I-6-1 细菌的液体接种法和培养特
征的观察..... 87

实验 I-6-2 细菌生长曲线的测定..... 91

第七周 微生物的显微镜直接计数法..... 94

实验 I-7-1 酵母菌和霉菌孢子的直接计
数法..... 94

实验 I-7-2 细菌细胞的直接计数法..... 99

第八周 微生物的间接计数法..... 102

实验 I-8-1 平板菌落计数法..... 102

实验 I-8-2 乳酸菌和双歧杆菌的简便快
速计数法..... 106

实验 I-8-3 用 MPN 法测定活性污泥中的
亚硝化细菌数..... 109

第九周 微生物的纯种分离法..... 112

实验 I-9-1 用平板划线法分离菌种..... 112

实验 I-9-2 用浇注平板法和涂布平板法
分离菌种..... 115

实验 I-9-3 真菌的单孢子分离法..... 118

实验 I-9-4 真菌的菌丝尖端切割分
离法..... 120

第十周 检测噬菌体的基本实验技术 123

 实验 I-10-1 大肠杆菌噬菌体的
 分离和纯化 123

 实验 I-10-2 噬菌体效价的测定 126

 实验 I-10-3 溶源性细菌的检测和鉴定 130

第十一周 微生物的遗传变异实验 134

 实验 I-11-1 紫外线对枯草芽孢杆菌产
 生淀粉酶的诱变效应 134

 实验 I-11-2 用梯度平板法筛选大肠杆
 菌抗药性突变株 137

 实验 I-11-3 大肠杆菌营养缺陷型
 突变株的筛选 139

 实验 I-11-4 Ames 试验法 144

 实验 I-11-5 细菌的原生质体融合 148

**第十二周 物理、化学因素对微生物生
长的影响** 153

 实验 I-12-1 温度、pH、渗透压和氧气对
 微生物生长的影响 153

 实验 I-12-2 消毒剂和杀菌剂最低抑制
 浓度(MIC)的测定 157

 实验 I-12-3 用杯碟法测定抗生素的
 效价 160

第十三周 菌种的保藏原理与方法 165

 实验 I-13-1 常用的简易保藏法 165

 实验 I-13-2 甘油保藏法 167

 实验 I-13-3 干燥保藏法 170

 实验 I-13-4 冷冻真空干燥保藏法 173

 实验 I-13-5 液氮超低温保藏法 177

**第十四周 细菌鉴定中的常规和微量快速
生理生化反应** 180

 实验 I-14-1 若干常规生理生化反应 180

 实验 I-14-2 应用 API-20E 细菌鉴定
 系统鉴定肠杆菌科的菌种 186

**第十五周 微生物分子生物学基础
实验** 191

 实验 I-15-1 细菌总 DNA 的小量制备 191

 实验 I-15-2 利用 PCR 技术制备基因
 片段 192

 实验 I-15-3 蓝白斑筛选技术在基因克隆
 中的应用 194

 实验 I-15-4 氯化钙法制备大肠杆菌感受态
 细胞和质粒 DNA 的转化 196

 实验 I-15-5 重组质粒 DNA 的小量制备
 和电泳验证 198

 实验 I-15-6 利用阿拉伯糖诱导观察细菌
 发光现象 200

第十六周 血清学反应实验技术 203

 实验 I-16-1 免疫血清的制备 203

 实验 I-16-2 凝集反应 209

 实验 I-16-3 环状沉淀试验 212

 实验 I-16-4 用鲎试剂法测定细菌内
 毒素 215

 实验 I-16-5 双向琼脂扩散沉淀反应 217

第二部分 任选实验(一)

1. 菌种分离、纯化和筛选技术 223

 实验 II-1-1 利用选择性培养基分离固氮
 菌、酵母菌和土壤真菌 223

 实验 II-1-2 酸奶的制作和其中乳酸菌的
 分离 225

 实验 II-1-3 产淀粉酶芽孢杆菌的分离和
 酶活性测定 229

 实验 II-1-4 杀虫细菌——苏云金芽孢杆
 菌的分离 232

 实验 II-1-5 酚降解细菌的分离、纯化和
 筛选 234

2. 厌氧菌培养技术 241

 实验 II-2-1 厌氧罐技术 241

 实验 II-2-2 用厌氧产气袋法分离培养丙
 酮丁醇梭菌 244

3. 水体微生物学检测技术 248

 实验 II-3-1 水中细菌菌落总数的测定 248

 实验 II-3-2 水中总大肠菌群群的检测 251

 实验 II-3-3 应用测菌管检测野外水体中
 微生物的数量 260

| | | | |
|---|-----|---|-----|
| 4. 分子微生物学实验技术 | 263 | 5. 免疫学实验技术 | 274 |
| 实验 II -4-1 利用 16S rRNA 基因序列鉴定 细菌 | 263 | 实验 II -5-1 巨噬细胞吞噬功能的测定 .. | 274 |
| 实验 II -4-2 利用 ITS 序列鉴定真菌 | 266 | 实验 II -5-2 用间接 ELISA 测定抗血清 的效价 | 277 |
| 实验 II -4-3 环境样品中微生物群落结 构的分析 | 270 | | |

第三部分 任选实验(二) ©*

| | | |
|-------------------------------------|-----------------------------------|--|
| 1. 菌种分离、纯化和筛选技术 | 实验 III -1-1 甜酒酿的制作及酒药中根霉的 分离 | 实验 III -4-1 微生物细胞的固定化及其应用 |
| 实验 III -1-2 杀虫真菌——白僵菌的分离 | 实验 III -1-3 拮抗性放线菌的筛选法 | 实验 III -4-2 台式自控发酵罐的原理、构造和 使用 |
| 2. 厌氧菌培养技术 | 实验 III -2-1 用亨盖特滚管技术分离严格厌 氧菌 | 5. 微生物遗传变异实验技术 |
| 3. 动、植物病毒实验技术 | 实验 III -3-1 植物病毒的接种、培养和定量 测定 | 实验 III -5-1 转座子 Tn5 的遗传学效应 |
| 实验 III -3-2 动物病毒的鸡胚接种、培养和病 毒滴度测定 | 实验 III -3-3 家蚕质型多角体病毒的培养和分 离提纯 | 实验 III -5-2 <i>Lac</i> ⁻ 突变型的互补测验 |
| 4. 微生物培养技术 | | 实验 III -5-3 大肠埃希氏菌 λ 噬菌体的高频 转导 |
| | | 实验 III -5-4 质粒 DNA 转化酵母细胞 |
| | | 实验 III -5-5 质粒从大肠埃希氏菌到链霉菌的 接合转移 |
| | | 6. 分子微生物学实验技术 |
| | | 实验 III -6-1 细菌 DNA 中 (G+C)mol% 值的测定 |
| | | 7. 食用菌实验技术 |
| | | 实验 III -7-1 食用菌菌种的分离和制种 |
| | | 实验 III -7-2 伞菌子实体的形态特征观察 浓度 |

参考文献 ©

| | | | |
|------------------------|-----|---------------------------------|-----|
| 附录 | 281 | 十、相对密度与糖度换算表 | 294 |
| 一、若干微生物的学名及其音标 | 281 | 十一、常用干燥剂 | 295 |
| 二、酸碱指示剂的配制 | 285 | 十二、十进制倍数和分数的词冠表 (国际制) | 295 |
| 三、常用培养基成分 | 286 | 十三、常用的计量单位 | 296 |
| 四、染色液和试剂的配制 | 289 | 十四、镜头清洁液和洗液的配制 | 296 |
| 五、蒸汽压力与温度的关系 | 291 | 十五、标准筛孔对照表 | 296 |
| 六、培养基容积与加压灭菌所需时间 | 291 | 十六、部分国家的菌种保藏机构名称和 网址信息 | 297 |
| 七、缓冲液的配制表 | 291 | | |
| 八、常用消毒剂表 | 293 | | |
| 九、市售浓酸和氨水的相对密度和实际 | | | |

* 请登录 <http://abook.hep.com.cn/51076> 浏览标记有 © 的内容。

第一部分 基础实验

第一周 环境微生物的检测和菌落识别

相比于动物和植物,微生物资源具有更丰富的物种多样性。在我们周围的环境中存在着各种各样的微生物,其种类繁多,形态多样。在普通光学显微镜下常见的微生物主要有细菌、放线菌、酵母菌和霉菌四大类。土壤是微生物栖居的“大本营”,它含有的微生物种类和数量最多;有些微生物附着在尘埃上,飘浮于大气中或沉降在各种物体的表面;此外,人和动物体的口腔、呼吸道和消化道及动、植物体表面都存在着各种微生物。识别它们的方法很多,其中最简便的方法是观察其菌落的形态和特征。这种方法对菌种筛选、鉴定和杂菌识别等实际工作也十分重要。

由于这些微生物个体微小、构造简单、肉眼难以观察到,因此,人们往往忽略了它们的存在,而这些微生物又常常是引起工厂、医院和生物学实验室中各种实验材料、实验菌种、产品或手术创口等污染的祸根。所以,对初学者来说必须树立“处处有菌”的观念,在实验过程中必须严格实行无菌操作,牢固地树立无菌概念,经常保持实验人员、桌面及周围环境的清洁,认真掌握好各种操作技术。

微生物的接种技术是微生物学实验室中最为常用的基本操作。接种是指在无菌操作条件下,将某种微生物移接到适合其生长繁殖的新鲜培养基中或生物体内的一种操作过程。微生物学实验室中常用的接种方法有斜面接种、穿刺接种、三点接种等。根据实验的目的和要求不同使用相应的接种工具与方法,采用避免杂菌污染的技术措施是确保实验成功的必要条件。

实验 I -1-1 环境中微生物的检测

【目的】

1. 初步了解周围环境中微生物的分布状况。
2. 懂得无菌操作在微生物学实验中的重要性。
3. 学会用无菌操作倒平板培养基的方法。

【概述】

在我们周围的环境中存在着种类繁多、数量庞大的微生物。它们的个体很微小,因此人们的肉眼无法直接观察到它们的存在。如果将这些微生物通过某种方法接种到适合于它们生长的固体培养基(含有微生物生长所必需的营养物)表面,在适宜的温度下培养一段时间后,少量分散的菌体或孢子就可生长繁殖成一个个肉眼可见的细胞群体,即菌落。如果平板上的单菌落是由单个细胞(或单个孢子)生长繁殖而成的,则称为纯菌落;将它移植传代后所得的菌种(如斜面培养物等形式)称为纯种微生物(或纯培养物)。不同种的微生物可形成大小、形态各异的菌落,因此,根据微生物菌落形态的不同,就可初步鉴别四大类微生物——细菌、放线菌、酵母菌和霉菌(见实验 I -1-5)。

微生物学是一门实践性很强的学科,熟练地掌握一套微生物实验操作技能是初学者的首要